

学位申請論文

Heat shock protein (HSP) 27, HSP70, HSP90 β 発現と 胃癌の進展との関連

獨協医科大学 第一外科学

小野寺真一

要 旨 本研究では胃癌における heat shock proteins (HSPs) の発現と臨床病理学的諸因子との関連について検討した。当科で手術を施行した胃癌68症例を対象とし、胃癌組織および背景非癌部組織における HSP27, HSP70, HSP90 β の発現と臨床病理学的諸因子との関連について免疫組織化学的に検討を行った。結果は HSP27, HSP70, HSP90 β いずれも非癌部組織より癌組織で有意に高い発現率を示した ($p < 0.01$)。臨床病理学的諸因子との検討では、HSP27は分化型癌、肝転移陽性例、静脈侵襲陽性例、進行癌で有意に発現率が高く、HSP90 β は分化型癌、進行癌で発現率が高く有意差を認めた ($p < 0.05$)。HSP70では分化型癌で発現率が高い傾向を示したが有意差は認められず、進行度や他の臨床病理学的因子との関連も認められなかった。本研究では HSPs の発現は胃癌組織で亢進しており、とくに HSP27 が癌細胞の進展に関連していると推測された。

Key Words : Heat shock protein (HSP) 27, HSP70, HSP90 β , Gastric cancer, Immunohistochemistry

緒 言

Heat shock proteins (HSPs) は生体が高温条件に暴露された際に細胞内で合成が誘導される一群のタンパク質として見出されたが、その誘導は熱ショックのみならず重金属、エタノール、砒素、活性酸素、感染、炎症、虚血などのストレスによっても生じることからストレスタンパク質とも呼ばれ、大腸菌からヒトに至るまで全ての生物に存在する^{1,2)}。また HSPs の多くは非ストレス時にも細胞内に比較的豊富に発現しており、細胞の恒常性(ホメオスタシス)を維持する上で重要な役割を果たしている。その機能は分子シャペロンと総称され、構造上不安定な新生ポリペプチドやタンパク質の疎水部分に結合し、それらのタンパク質の折り畳み (folding)、多量体の形成 (assembly)、細胞内小器官への輸送 (transport) を介助、不要になったタンパク質を分解 (degradation) する過程にも関与している^{3~5)}。最近では樹状細胞やマクロファージなどの抗原提示細胞上の HSP レセプターが同定され、HSP が結合することにより抗原提示細胞の成

熟、活性化を誘導すると同時に major histocompatibility complex (MHC) class I に抗原提示するという機能が報告されている^{6,7)}。Basu らは HSP70, HSP90, gp96, calreticulin といった HSP がネクローシスを起こした細胞から放出されるが、アポトーシス細胞からはそのような放出は認められず、これらの HSP により樹状細胞の成熟、活性化が進行することを報告している⁸⁾。Tamura らは腫瘍から精製した HSP-抗原ペプチドを免疫すると腫瘍あるいはペプチド特異的な抗腫瘍免疫応答を誘導できることを報告している^{9,10)}。

HSP はその分子量により HSP90 (90 kDa) ファミリー、HSP70 (70 kDa) ファミリー、HSP60 (60 kDa) ファミリー、HSP40 (40 kDa) ファミリー、低分子量 HSP (15-30 kDa) などに分類される。HSP27 は乳癌、卵巣癌、食道扁平上皮癌、肝細胞癌、脳腫瘍^{11~18)}、HSP70 は乳癌、大腸癌、膵癌、肺癌^{19~22)}、HSP90 は乳癌、卵巣癌、膵癌^{23,24)} などにおける発現が報告されているが胃癌組織における研究報告は少ない。そこで本研究では胃癌組織および背景非癌部組織における代表的な3種類の HSP (HSP27, HSP70, HSP90 β) の発現について免疫組織化学的方法で検索、さらに臨床病理学的諸因子との関連についても検討、胃癌での発現が有意なものであるかを検討した。

平成19年11月1日受付、平成19年12月20日受理
別刷請求先：小野寺真一

〒321-0293 栃木県下都賀郡壬生町北小林880
獨協医科大学 第一外科学

対象と方法

1. 対象

書面によるインフォームド・コンセントを得て2002年1月から2004年2月に当科で手術を施行した胃癌68症例を対象とした。術式は幽門側胃切除術30例、胃全摘術35例、残胃全摘術3例で年齢は44～85歳（平均：65.8±10.4）であった。

背景非癌部組織は胃癌組織より3 cm以上離れた部位より採取し、胃癌組織の病理組織診断はhematoxylin-eosin (HE) 染色にて行った。

臨床病理学的分類はJapanese Classification of Gastric Carcinoma-2nd English Edition²⁵⁾に基づき分類した。組織型は乳頭腺癌6例(8.8%)、高分化型管状腺癌6例(8.8%)、中分化型管状腺癌16例(23.5%)、低分化腺癌31例(45.6%)、印環細胞癌7例(10.3%)、粘液癌2例(2.9%)であり、乳頭腺癌、高・中分化型管状腺癌を分化型癌(28例)、低分化腺癌、印環細胞癌、粘液癌を未分化型癌(40例)に分類し検討した。壁深達度はT1:7例(10.3%)、T2:25例(36.8%)、T3:22例(32.3%)、T4:14例(20.6%)で進行度(Stage)はIA:6例(8.8%)、IB:10例(14.7%)、II:8例(11.8%)、IIIA:12例(17.6%)、IIIB:3例(4.4%)、IV:29例(42.6%)で早期癌、進行癌に分類するとそれぞれ7例(10.3%)、61例(89.7%)であった。

2. 免疫組織化学染色

免疫組織化学染色は非癌部組織、癌組織ともに3 μmに薄切した10%ホルマリン固定パラフィン包埋切片を作製し、avidin-biotin-peroxidase (ABC) 法 (Vectastain ABC Elite peroxidase kit: Vector Laboratories, Burlingame, USA) にて行った。HSP27, HSP70, HSP90βに対する一次抗体としてanti-HSP27 (C-20) goat polyclonal IgG antibody (×100, Santa Cruz Biotechnology, CA, USA), anti-HSP70 (W27) mouse monoclonal IgG antibody (×50, Santa Cruz Biotechnology, CA, USA), anti-HSP90β (D-19) goat polyclonal IgG antibody (×80, Santa Cruz Biotechnology, CA, USA) を用いた。発色剤として3-3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB, Dotite: Dojindo, Tokyo, Japan) を使用し、核染色はメチルグリーンにて行った。

ヒト乳癌組織コントロールスライド (DAKO Co., CA, USA) を同様に免疫染色し陽性コントロールとした。

免疫組織化学染色の評価は核または細胞質が陽性コントロールと同等以上に茶褐色の発色を認めた場合を発現陽性とし、発色が弱いものや局在を認めないものは発現

陰性と判定した。背景非癌部組織では腺管を構成する細胞(腺窩上皮～粘膜固有層(腺底部)まで)を計測し一腺管中の陽性細胞率を算出した。しかしながら、背景非癌部組織は正常胃粘膜、胃炎、萎縮性変化、腸上皮化生など多様な形態を呈しており、今回の検討では任意にサンプリングした数視野の平均値を陽性細胞率とした。癌組織においても同様に免疫組織学的なHSPs発現様式の多様性が認められるため、任意にサンプリングした数視野中の癌細胞のみを平均621個(214～1303個)観察し、陽性細胞率の平均値を算出した。その上で次の4つの検討を行った。

- ①非癌部組織と癌組織でのHSPs発現の比較
- ②癌組織でのHSPs発現陽性率と臨床病理学的諸因子との関係
- ③癌組織での発現陽性率が非癌部組織での陽性率の平均値+2SD (standard deviation) 以上を高発現群、それ未満を低発現群とした場合の臨床病理学的諸因子との関係
- ④癌組織での発現陽性率が中央値以上を高発現群、それ未満を低発現群とした場合の臨床病理学的諸因子との関係

3. 統計学的分析

結果は平均値±標準偏差(%)で表記した。統計学的有意差の検定はMann-Whitney's U test, Kruskal-Wallis test, chi-square test, Fisher's exact probability testを用い、有意水準5% ($p < 0.05$) で行った。

結 果

1. 検討①②

68症例中男性50例(平均年齢:65.5±10.3歳)、女性18例(平均年齢:66.6±11.1歳)であったが、HSP70, HSP27, HSP90βいずれも男女間で発現率に差を認めなかった。

表1にHSP27, HSP70, HSP90β発現陽性率と臨床病理学的諸因子との関係を呈示した。

HSP27の発現は非癌部組織、癌組織ともに細胞質主体に認められ、一部核内でも認められた。また非癌部組織では固有粘膜層、とくに腺頸部から腺体部に強い発現を認める傾向にあった。一方、腸上皮化生部での発現は弱いか認められなかった(図1)。非癌部組織と癌組織での発現陽性率はそれぞれ6.4±5.1%、18.3±20.1%で癌組織において有意に高い発現率を示した($p < 0.01$)。臨床病理学的因子との検討では分化型癌は未分化型癌に比べて発現率が高く有意差を認めた($p < 0.05$)。また肝転移陽性例、静脈侵襲陽性例で陰性例より有意に高い発現率を認めた($p < 0.05$)。Stage分類では有意差を認めな

表1 HSPs 発現陽性率と臨床病理学的因子との関連

因子	症例数	HSP27 陽性率 (%)	p 値	HSP70 陽性率 (%)	p 値	HSP90β 陽性率 (%)	p 値
性別			0.7492		0.7074		0.5687
男性	50	19.0 ± 22.3		40.3 ± 28.5		15.8 ± 21.4	
女性	18	16.3 ± 12.1		37.0 ± 26.6		11.9 ± 14.2	
非癌部	68	6.4 ± 5.1	* < 0.0001	16.7 ± 13.9	* < 0.0001	5.3 ± 4.3	* 0.004
癌部	68	18.3 ± 20.1		39.4 ± 27.9		14.7 ± 19.7	
壁深達度			* 0.0177		0.1131		* 0.0113
T1	7	15.0 ± 31.1*		24.4 ± 25.4		9.0 ± 21.7*	
T2	25	17.3 ± 16.9		35.2 ± 24.4		12.6 ± 15.9	
T3	22	20.5 ± 19.0		45.7 ± 31.2		19.8 ± 25.7	
T4	14	18.2 ± 22.4		44.6 ± 27.8		13.5 ± 13.3	
T2-T4	61	18.7 ± 18.7*		41.1 ± 27.8		15.4 ± 19.5*	
リンパ節転移 [†]			0.853		0.3685		0.6969
陰性	17	14.4 ± 20.5		32.8 ± 22.3		15.1 ± 19.2	
陽性	51	19.6 ± 20.0		41.6 ± 29.4		14.6 ± 20.0	
肝転移 [†]			* 0.0349		0.8797		0.0881
陰性	61	15.6 ± 16.2		39.8 ± 28.3		13.6 ± 18.8	
陽性	7	41.9 ± 33.8		36.0 ± 25.5		24.7 ± 25.7	
腹膜転移 [†]			0.3409		0.2189		0.931
陰性	58	18.1 ± 21.0		37.6 ± 27.2		15.4 ± 20.7	
陽性	10	16.9 ± 14.2		49.8 ± 30.8		11.0 ± 13.0	
遠隔転移 [†]			0.6498		0.3081		0.4492
陰性	61	18.4 ± 20.8		38.4 ± 28.0		15.6 ± 20.4	
陽性	7	17.3 ± 12.5		48.6 ± 26.9		7.0 ± 9.2	
Stage			NS		NS		NS
IA	6	17.4 ± 33.5		25.3 ± 27.7		10.4 ± 23.4	
IB	10	13.2 ± 11.0		31.7 ± 17.7		18.8 ± 17.7	
II	8	7.2 ± 7.1		35.8 ± 27.5		6.2 ± 8.2	
IIIA	12	18.7 ± 21.1		39.5 ± 35.4		19.7 ± 27.3	
IIIB	3	20.4 ± 9.7		35.0 ± 26.3		8.9 ± 10.3	
IV	29	22.9 ± 21.5		46.4 ± 27.8		15.1 ± 27.8	
組織型			* 0.0071		0.1907		* 0.0341
分化型	28	27.7 ± 26.5		43.6 ± 25.5		21.6 ± 23.0	
未分化型	40	11.7 ± 9.9		36.5 ± 29.4		9.9 ± 15.6	
リンパ管侵襲			0.4655		0.7545		0.8757
陰性	4	24.8 ± 40.6		44.6 ± 33.9		16.5 ± 27.9	
陽性	64	17.9 ± 18.6		39.1 ± 27.8		14.6 ± 19.4	
静脈侵襲			* 0.0028		0.6822		0.2192
陰性	14	11.6 ± 21.9		38.7 ± 33.6		12.5 ± 23.5	
陽性	54	20.0 ± 19.4		39.6 ± 26.6		15.3 ± 18.8	

HSP : Heat shock protein

HSPs 陽性率 : 非癌部組織では一腺管中の陽性細胞率を算出, 癌組織では癌細胞のみを観察, その中の陽性細胞率を算出し, 平均値 ± 標準偏差 (%) で示した.

* : 有意差あり ($p < 0.05$), NS : 有意差なし

† : 転移は全て同時性転移

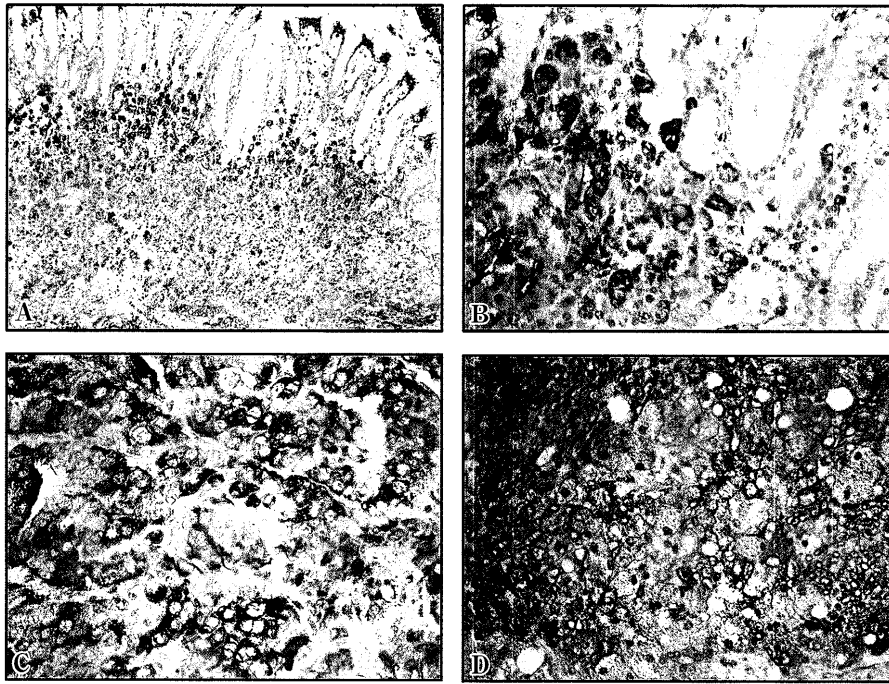


図 1A-D. 免疫組織化学染色 (HSP27)

A : 非癌部組織 (×100), B : 非癌部組織 (×400), C : 中分化型管状腺癌 (×400),
D : 低分化腺癌 (×400)

A, B, C, D : HSP27の発現は非癌部組織, 癌組織ともに細胞質主体に認められた。
A, B : 非癌部組織では固有粘膜層, とくに腺頸部から腺体部に強い発現を認めた。

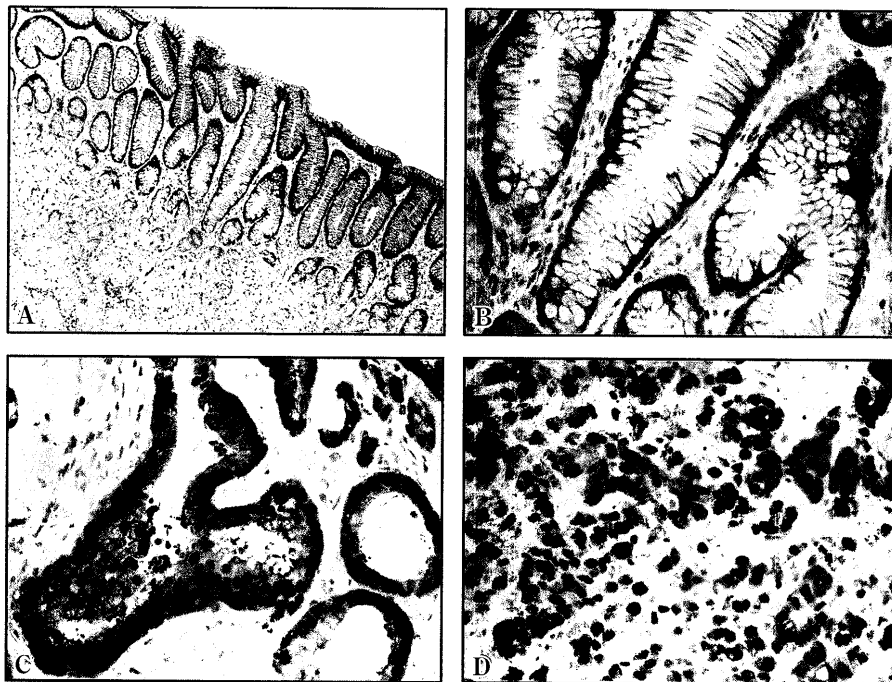


図 2A-D. 免疫組織化学染色 (HSP70)

A : 非癌部組織 (×100), B : 非癌部組織 (×400), C : 高分化型管状腺癌 (×400),
D : 低分化腺癌 (×400)

A, B, C, D : HSP70の発現は非癌部組織, 癌組織ともに核および細胞質で認められた。
A, B : 非癌部組織では腺窩上皮から固有粘膜層まで発現が認められたが, 腺窩上皮に強い発現を認めた。

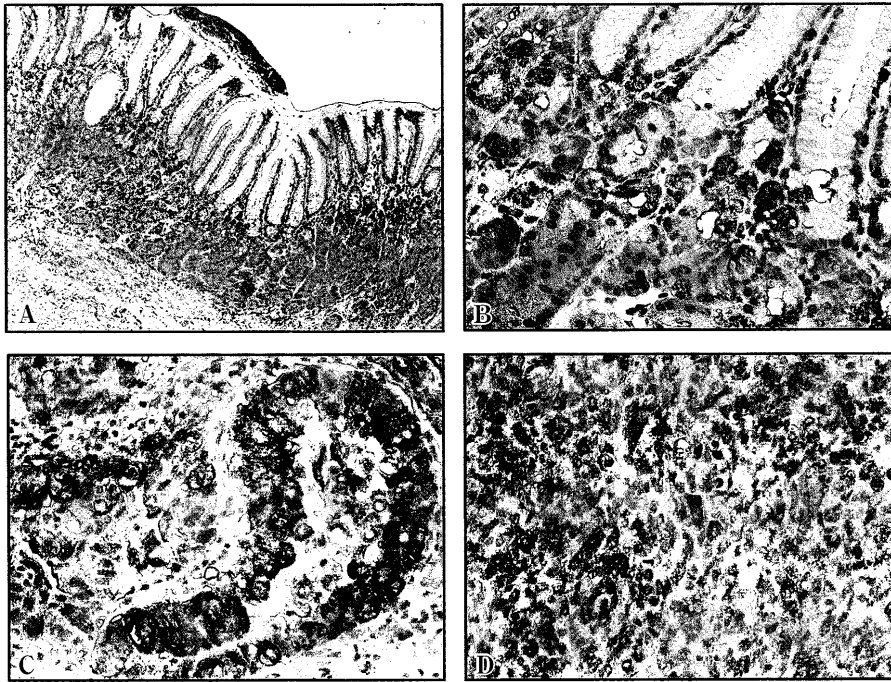


図 3A-D. 免疫組織化学染色 (HSP90 β)

A: 非癌部組織 ($\times 100$), B: 非癌部組織 ($\times 400$), C: 高分化型管状腺癌 ($\times 400$)

D: 低分化腺癌 ($\times 400$)

A, B, C, D: HSP90 β の発現は非癌部組織, 癌組織ともに細胞質主体で認められた.

A, B: 非癌部組織では固有粘膜層, とくに腺頸部辺りに強い発現を認めた.

ったが, 壁深達度との比較ではより進行した癌で高い発現率を示し有意差を認めた ($p < 0.05$).

HSP70 の発現は非癌部組織, 癌組織ともに核および細胞質で認められた. また非癌部組織では腺窩上皮から固有粘膜層まで発現が認められたが, 正常胃粘膜では腺窩上皮に強い発現を認める傾向にあった (図 2). 非癌部組織と癌組織での発現陽性率はそれぞれ $16.7 \pm 13.9\%$, $39.4 \pm 27.9\%$ であり, 癌組織で有意に高い発現率を示した ($p < 0.01$). 臨床病理学的因子との検討では, 未分化型癌に比べ分化型癌で発現率が高い傾向にあったが有意差は認められず, その他の臨床病理学的因子との関連も認められなかった.

HSP90 β は非癌部組織, 癌組織ともに主に細胞質で発現が認められた. また非癌部組織では HSP27 と似ており, 固有粘膜層, とくに腺頸部辺りに強い発現を認める傾向にあった (図 3). 非癌部組織と癌組織での発現陽性率はそれぞれ $5.3 \pm 4.3\%$, $14.7 \pm 19.7\%$ であり, 癌組織で有意に高い発現率を示した ($p < 0.01$). 臨床病理学的因子との検討では未分化型癌に比べ分化型癌で発現率が高く有意差を認めた ($p < 0.05$). また進行癌で有意に高い発現率を認めたが ($p < 0.05$), その他の因子では有意差を認めなかった.

2. 検討③

表 2 に結果を呈示した. HSP27 の組織型の検討で分化型癌に高発現群が多く有意差が認められた ($p < 0.05$). HSP70, HSP90 β の検討ではいずれの因子とも有意差を認めなかった.

3. 検討④

表 3 に結果を呈示した. 検討③と同様, HSP27 の組織型の検討で有意差が認められた ($p < 0.05$).

考 察

本研究では胃癌における HSP27, HSP70, HSP90 β の発現を免疫組織化学的に検索し, その発現の意義, 臨床病理学的諸因子との関連について検討した. HSP27 は細胞質主体で核にも発現が認められ, HSP70 は細胞質と核, HSP90 β は細胞質に発現が認められた. 文献的にも HSPs は細胞質, 核, 細胞膜への発現が認められると述べられているが, HSPs の細胞内局在の意義については明らかになっておらず, 細胞質, 核それぞれでの発現と臨床病理学的因子との関連についての検討は今後の研究課題であると思われる.

今回の検討から HSP27, HSP70, HSP90 β はいずれも背景非癌部組織に比べ癌組織で発現が亢進しており,

表2 HSP高発現群, HSP低発現群と臨床病理学的因子との関連

因子	HSP27		p値	HSP70		p値	HSP90β		p値
	High	Low		High	Low		High	Low	
壁深達度			0.4090			0.2259			0.4320
T1	1	6		1	6		1	6	
T2-T4	22	39		27	34		20	41	
リンパ節転移 [†]			0.3828			0.3939			0.7635
陰性	4	13		5	12		6	11	
陽性	19	32		23	28		15	36	
肝転移 [†]			0.2157			0.2259			0.6677
陰性	19	42		27	34		18	43	
陽性	4	3		1	6		3	4	
腹膜転移 [†]			0.7236			0.2972			>0.9999
陰性	19	39		22	36		18	40	
陽性	4	6		6	4		3	7	
遠隔転移 [†]			0.6812			0.4346			0.4230
陰性	20	41		24	37		20	41	
陽性	3	4		4	3		1	6	
組織型			*0.0136			0.4601			0.1436
分化型	18	10		16	12		15	13	
未分化型	13	27		18	22		14	26	
リンパ管侵襲			>0.9999			>0.9999			>0.9999
陰性	1	3		2	2		1	3	
陽性	22	42		26	38		20	44	
静脈侵襲			0.1161			>0.9999			0.5235
陰性	2	12		6	8		3	11	
陽性	21	33		22	32		18	36	

High: 癌組織での発現陽性率が非癌部組織での陽性率の平均値 + 2SD以上

Low: 癌組織での発現陽性率が非癌部組織での陽性率の平均値 + 2SD未満

*: 有意差あり ($p < 0.05$)

†: 転移は全て同時性転移

HSP27とHSP90βは進行癌で発現率が高いことが示された。この理由として、一般的に癌細胞は異常な増殖を繰り返しており、急速に体積が増大するが、このため血管密度が組織に十分ではなく、低酸素、栄養不足、代謝産物蓄積といったストレスが多い状況に暴露されるため、HSPを含むストレスタンパク質の発現が亢進したと推測される。

HSP70を過剰発現させると、ストレスによるc-Jun N-terminal kinases (JNKs)の活性化の抑制、ミトコンドリアの保護作用、アポトーシスプロテアーゼ活性化因子1 (Apaf-1)との結合によるアポトソーム形成をブロックしcaspase-9の活性化を抑制、アポトーシス誘導因子との結合による活性化阻止などアポトーシス経路を多段階で抑制することが明らかにされている^{26,27}。すなわち、癌組織の増大に伴い、過剰発現したHSPsがストレス応答やアポトーシスの抑制などの経路に作用し、癌細胞の生存と増殖、進展において重要な関与をしている可

能性が示唆される²⁸。HSP27, HSP90発現亢進とアポトーシス抵抗性の関連に関する報告は少なく、今後の研究課題と考えられるが、最近ではこの観点から特定のHSPsの働きを抑制し腫瘍の制御に応用する試みが進行している。

HSP27は低分子量HSPのひとつでストレスにより誘導およびリン酸化を受ける。哺乳動物のHSP27は骨格筋、とくに赤筋に多く分布し、細胞中では500kDa以上のheteropolymerを形成している²⁹。HSP27の発現亢進は乳癌、卵巣癌、食道扁平上皮癌などで認められているが、乳癌では予後不良因子^{11,12}、逆に食道扁平上皮癌では予後良好因子である^{15,16}と報告されており、卵巣癌においては予後不良因子¹³、良好因子¹⁴どちらの報告もあり評価が定まっていない。Kapranosらは胃癌におけるHSP27の発現は転移リンパ節数が7個以上の症例で有意に高く、予後解析でHSP27陽性群は陰性群に比べ予後不良であると報告している³⁰。またTakenoらは切除可能

表3 胃癌組織における HSP 高発現群, HSP 低発現群と臨床病理学的因子との関連

因子	HSP27		p 値	HSP70		p 値	HSP90β		p 値
	High	Low		High	Low		High	Low	
壁深達度			> 0.9999			> 0.9999			> 0.9999
T1	4	3		3	4		4	3	
T2-T4	30	31		31	30		30	31	
リンパ節転移 [†]			> 0.9999			> 0.9999			*0.0234
陰性	9	8		8	9		13	4	
陽性	25	26		26	25		21	30	
肝転移 [†]			> 0.9999			> 0.9999			> 0.9999
陰性	30	31		31	30		31	30	
陽性	4	3		3	4		3	4	
腹膜転移 [†]			> 0.9999			0.7337			0.3047
陰性	29	29		30	28		31	27	
陽性	5	5		4	6		3	7	
遠隔転移 [†]			0.4275			0.4275			> 0.9999
陰性	32	29		32	29		31	30	
陽性	2	5		2	5		3	4	
組織型			*0.0062			0.4601			0.0837
分化型	20	8		16	12		18	10	
未分化型	14	26		18	22		16	24	
リンパ管侵襲			> 0.9999			> 0.9999			> 0.9999
陰性	2	2		2	2		2	2	
陽性	32	32		32	32		32	32	
静脈侵襲			0.7652			0.3689			0.1320
陰性	6	8		5	9		10	4	
陽性	28	26		29	25		24	30	

High: 癌組織での発現陽性率が中央値以上

Low: 癌組織での発現陽性率が中央値未満

*: 有意差あり ($p < 0.05$)

†: 転移は全て同時性転移

な Stage IV 胃癌において, リンパ節転移 N2, N3 症例, 静脈侵襲 v2, v3 症例と HSP27 陽性発現との関連を報告しているが, 予後との関連は認めなかったとしている. しかし 3 年以上の長期生存 Stage IV 胃癌 6 例中 5 例で HSP27 の発現が陰性であったという興味深いデータも出ている³¹⁾. 本研究では HSP27 は進行癌中の静脈侵襲陽性例や肝転移陽性例で有意に高い発現率を示しており, 癌の進展に伴う HSP27 発現の亢進が推測される. また未分化型癌に比べて分化型癌で高い発現率を示しており, 高発現群と低発現群の検討 (表 2, 3) でも分化型癌で高発現群が多く有意差を認めた. 過去の臨床病理学的検討からも高分化型の静脈侵襲陽性例に肝転移が多く^{32~34)}, HSP27 の発現亢進が静脈侵襲に関連している可能性が推測される. 今回の検討ではリンパ管侵襲, 静脈侵襲の判定は HE 染色にて行っているが, 今後は特殊染色による判定も必要であると考えられた.

HSP70 は最も研究が進んでいる HSP のひとつで, 細胞

質, 核, 細胞膜に局在し, 分子シャペロンの中核的役割を担っていると考えられており, 癌細胞にも発現していることが見出されている. HSP70 はストレス応答により発現が誘導される誘導型 HSP で非ストレス時でもほとんどの主要器官に比較的多量に構成的に存在し, 蛋白質の合成や折れたために関与する (シャペロン機能) heat shock cognate protein (HSC) 70 (別名: HSP73) とは区別される. HSP70 は乳癌, 大腸癌などにおいて高発現群は低発現群と比較して予後不良であると報告されている^{19,20)}. 胃癌においても Canöz ら (免疫組織染色にて検討) は腫瘍径 5 cm 以上, 漿膜下層以深への浸潤, リンパ節転移陽性, 脈管侵襲陽性例で有意な高発現を示すことから予後因子としての可能性を示唆しているが³⁵⁾, Maehara ら (免疫組織染色とウェスタン・ブロット解析にて検討) は未分化型癌に比べ分化型癌で有意に高い陽性率を示すのみで進行度や予後との関連は認められなかったと報告している³⁶⁾. また Isomoto ら (免疫組織染色とウ

ェスタン・プロット解析にて検討)もMaeharaらと同様分化型癌は未分化型癌に比べて有意に高い陽性率を示すが他の臨床病理学的因子との関連は認められず、HSP70陽性群と陰性群の予後に有意差は認められなかったと報告している³⁷⁾。本研究でも未分化型癌より分化型癌で発現率が高い傾向を示したが有意差は得られず、進行度や他の臨床病理学的因子との関連は認められなかった。高発現群と低発現群の検討(表2, 3)でも臨床病理学的因子との間で有意差は認められなかった。これにはHSP70が非癌部組織でも高い発現を示していたため、癌化に伴う増加率が低いことも関連していると思われる。つまりHSP70の発現により得られる細胞増殖上の利点に差が少ない可能性が推測される。

HSP90は細胞質にほぼ一様に分布し、非ストレス時でも細胞内の可溶性タンパク質の1~数%を占める主要な分子シャペロンでありストレスによって発現が増大する。HSP90は遺伝子配列の異なる2つのアイソフォームHSP90 α とHSP90 β が存在し、ヒトの場合アミノ酸配列は85%相同である^{38,39)}。Yanoらは乳癌においてHSP90 α は細胞の増殖に関係し、HSP90 β は細胞の分化に関係していると報告している²³⁾。Ogataらは膵臓におけるHSP90の発現についてHSP90 α は癌化に関係し、HSP90 β は恒常的に発現していることを報告しているが²⁴⁾、本研究では非癌部組織に比べ癌組織で有意なHSP90 β 発現亢進が認められた。また進行癌で有意に高い発現率を認めており、HSP27同様、癌の進展との関連が推測された。Liuら(免疫組織染色にて検討)は胃癌におけるHSP90 β 発現の検討で非癌部組織より癌組織で発現亢進し、低分化腺癌で陽性発現率が高いと報告しているが⁴⁰⁾、今回の検討ではLiuらと異なり未分化型癌に比べ分化型癌で有意に発現率が高かった。また、高発現群と低発現群の検討(表3)でも有意差はないが分化型癌で高発現群が多い傾向にあった。Zuoら(免疫組織染色にて検討)は胃癌におけるHSP90 α は非癌部組織より癌組織で発現亢進し、リンパ節転移に関連していると報告しているが⁴¹⁾、本研究の高発現群、低発現群の検討(表2, 3)ではリンパ節転移陽性例は低発現群が多い傾向にあり、今後HSP90 α についての検討も必要であると考えられた。

本研究では免疫組織学的に任意にサンプリングした各視野の平均値で発現陽性率を検討したが、各症例ごとに背景非癌部組織に対して癌組織でのHSPs発現が亢進しているかどうかの検討も今後必要である。また様々な形態の非癌部組織や癌組織から選択的にHSPs発現を定量出来れば、より信頼性の高い評価が行えると考えられる。

結 論

胃癌組織におけるHSP27, HSP70, HSP90 β 発現の検討により、いずれのHSPも背景非癌部組織に比べて癌組織で有意に高い発現率が認められた。とくにHSP27の検討では進行胃癌の分化型癌で有意に発現率が高く、静脈侵襲陽性例、肝転移陽性例で有意に高い発現率が認められた。

今回検討したHSPsの中では胃癌の浸潤や転移にはHSP27が最も関連している可能性が推測された。

文 献

- 1) Lindquist S. : The heat shock response. *Annu Rev Biochem*, **55** : 1151-1191, 1986.
- 2) Minowada G, Welch WJ. : Clinical implications of the stress response. *J Clin Invest*, **95** : 3-12, 1995.
- 3) Gething MJ, Sambrook J. : Protein folding in the cell. *Nature*, **355** : 33-45, 1992.
- 4) Hendrick JP, Hartl FU. : Molecular chaperone functions of the heat-shock proteins. *Annu Rev Biochem*, **62** : 349-384, 1993.
- 5) Becker J, Craig EA. : Heat-shock proteins as molecular chaperones. *Eur J Biochem*, **219** : 11-23, 1994.
- 6) Srivastava P. : Interaction of heat shock proteins with peptides and antigen presenting cells : chaperoning of the innate and adaptive immune responses. *Annu Rev Immunol*, **20** : 395-425, 2002.
- 7) Tamura Y, Tsuboi N, Sato N, et al. : 70 kDa heat shock cognate protein is a transformation-associated antigen and a possible target for the host's anti-tumor immunity. *J Immunol*, **151** : 5516-5524, 1993.
- 8) Basu S, Binder RJ, Suto R, et al. : Srivastava PK. Necrotic but not apoptotic cell death release heat shock proteins, which deliver a partial maturation signal to dendritic cells and activate the NF- κ B pathway. *International Immunol*, **12** : 1539-1546, 2000.
- 9) Tamura Y, Peng P, Liu K, et al. : PK. Immunotherapy of tumors with autologous tumor-derived heat shock protein preparations. *Science*, **278** : 117-120, 1997.
- 10) Sato K, Torimoto Y, Tamura Y, et al. : Immunotherapy using heat-shock protein preparations of leukemia cells after syngeneic bone marrow transplantation in mice. *Blood*, **98** : 1852-1857, 2001.
- 11) Thor A, Benz C, Moore ID, Goldman E, et al. : Stress-response-protein (hsp27) determination in primary human breast carcinomas : clinical, histologic and

- prognostic correlations. *J Nat Cancer Inst.*, **83** : 170-178, 1991.
- 12) Love S, King RJ. : A 27kDa heat shock protein that has anomalous prognostic powers in early and advanced breast cancer. *Br J Cancer*, **69** : 743-748, 1994.
- 13) Arts HJ, Hollema H, Lemstra W, et al. : Heat-shock-protein-27 (hsp27) expression in ovarian carcinoma : relation in response to chemotherapy and prognosis. *Int J Cancer*, **84** : 234-238, 1999.
- 14) Geisler JP, Geisler HE, Tammela J, et al. : Heat shock protein 27 : an independent prognostic indicator of survival in patients with epithelial ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol.*, **69** : 14-16, 1998.
- 15) Kawanishi K, Shiozaki H, Doki Y, et al. : Prognostic significance of heat shock proteins 27 and 70 in patients with squamous cell carcinoma of the esophagus. *Cancer*, **85** : 1649-1657, 1999.
- 16) Nakajima M, Kuwano H, Miyazaki T, et al. : Significant correlation between expression of heat shock proteins 27, 70 and lymphocyte infiltration in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Lett.*, **178** : 99-106, 2002
- 17) King KL, Li AF, Chau GY, et al. : Prognostic significance of heat shock protein-27 expression in hepatocellular carcinoma and its relation to histologic grading and survival. *Cancer*, **88** : 2464-2470, 2000.
- 18) Hitotsumatsu T, Iwaki T, Fukui M, et al. : Distinctive immunohistochemical profiles of small heat shock proteins (heat shock protein 27 and alpha B-crystallin) in human brain tumors. *Cancer*, **77** : 352-361, 1996.
- 19) Ciocca DR, Clark GM, Tandon AK, et al. : Heat shock protein hsp70 in patients with axillary lymph node-negative breast cancer : Prognostic implications. *J Natl Cancer Inst.*, **85** : 570-574, 1993.
- 20) Lazaris AC, Theodoropoulos GE, Davaris PS, et al. : Heat shock protein 70 and HLA-DR molecules tissue expression. Prognostic implications in colorectal cancer. *Dis Colon Rectum*, **38** : 739-745, 1995.
- 21) Gress TM, Muller-Pillasch F, Weber C, et al. : Differential expression of heat shock proteins in pancreatic carcinoma. *Cancer Res.*, **54** : 547-551, 1994.
- 22) Bonay M, Soler P, Riquet M, et al. : Expression of heat shock proteins in human lung and lung cancers. *Am J Respir Cell Mol Biol.*, **10** : 453-461, 1994.
- 23) Yano M, Naito Z, Tanaka S, et al. : Expression and roles of heat shock proteins in human breast cancer. *Jpn J Cancer Res.*, **87** : 908-915, 1996.
- 24) Ogata M, Naito Z, Tanaka S, et al. : Overexpression and localization of heat shock proteins mRNA in pancreatic carcinoma. *J Nippon Med Sch.*, **67** : 177-185, 2000.
- 25) Japanese Gastric Cancer Association. Japanese classification of gastric carcinoma-2nd English Edition-. *Gastric Cancer*, **1** : 10-24, 1998.
- 26) Samali A, Orrenius S. : Heat shock proteins : regulators of stress response and apoptosis. *Cell Stress Chaperone*, **3** : 228-235, 1999.
- 27) Beere HM, Wolf BB, Cain K, et al. : Heat-shock protein 70 inhibits apoptosis by preventing recruitment of procaspase-9 to the Apaf-1 apoptosome. *Nat Cell Biol.*, **2** : 469-475, 2000.
- 28) Ali Aghdassi, Phoebe Phillips, Vikas Dudeja, et al. : Heat shock protein 70 Increases Tumorigenicity and Inhibits Apoptosis in Pancreatic Adenocarcinoma. *Cancer Res.*, **67** : 616-625, 2007.
- 29) Ciocca DR, Oesterreich S, Chamness GC, et al. : Biological and clinical implications of heat shock protein 27000 (Hsp27) : a review. *J Natl Cancer Inst.*, **85** : 1558-1570, 1993.
- 30) Kapranos N, Kominea A, Konstantinopoulos PA, et al. : Expression of the 27-kDa heat shock protein (HSP27) in gastric carcinomas and adjacent normal, metaplastic, and dysplastic gastric mucosa, and its prognostic significance. *J Cancer Res Clin Oncol.*, **128** : 426-432, 2002.
- 31) Takeno S, Noguchi T, Kikuchi R, et al. : Analysis of the survival period in resectable stage IV gastric cancer. *Ann Surg Oncol*, **8** : 215-221, 2001.
- 32) Nishi M, Tamura T, Takatsuki M. : Clinico-pathological study of gastric cancer with liver metastasis, especially on the factors affecting the development of liver metastasis. *Jpn J Cancer Clin.*, **8** : 759-767, 1962.
- 33) Sugano H, Nakamura K, Kato Y. : Pathological studies of human gastric cancer. *Acta Pathol Jpn.*, **32** : 329-347, 1982.
- 34) Noguchi Y. : Blood vessel invasion in gastric carcinoma. *Surgery*, **107** : 140-148, 1990.
- 35) Canöz Ö, Belenli O, Patiroglu TE. : General features of gastric carcinomas and comparison of HSP70 and NK cell immunoreactivity with prognostic factors. *Pathology Oncol Res.*, **8** : 262-269, 2002.
- 36) Maehara Y, Oki E, Abe T, et al. : Overexpression of

- the heat shock proteins HSP70 family and p53 protein and prognosis for patients with gastric cancer. *Oncology*, **58** : 144-151, 2000.
- 37) Isomoto H, Oka M, Yano Y, et al. : Expression of heat shock protein (HSP) 70 and HSP40 in gastric cancer. *Cancer Letters*, **198** : 219-228, 2003.
- 38) Csermely P, Schnaider T, Soti C, et al. : The 90-kDa molecular chaperone family : structure, function, and clinical applications. A comprehensive review. *Pharmacol Ther.*, **79** : 129-168, 1998.
- 39) Yahara I, Minami Y, Miyata Y. : The 90-kDa stress protein, Hsp90, is a novel molecular chaperone. *Ann NY Acad Sci.*, **851** : 54-60, 1998.
- 40) Liu X, Ye L, Wang J, et al. : Expression of heat shock protein 90 beta in human gastric cancer tissue and SGC7901/VCR of MDR-type gastric cancer cell line. *Chin Med J (Engl.)*, **112** : 1133-1137, 1999.
- 41) Zuo DS, Dai J, Bo AH, et al. : Significance of expression of heat shock protein90alpha in human gastric cancer. *World J Gastroenterol.*, **9** : 2616-2618, 2003.